

Gélose Columbia (base)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Columbia est un milieu très nutritif permettant les culture et isolement d'une grande variété de microorganismes et plus particulièrement des germes très exigeants (tels que streptocoques et pneumocoques), à partir de divers prélèvements d'origine animale. Par addition de sang, d'agents sélectifs ou d'accélérateurs de croissance, il est possible de préparer une grande diversité de milieux adaptés à des utilisations spécifiques.

HISTORIQUE

Mise au point par Ellner en 1966, la gélose Columbia permet d'obtenir des cultures luxuriantes, des zones hémolytiques parfaitement définies, des colonies et des pigmentations bien caractéristiques.

PRINCIPES

- Les peptones qui entrent dans la composition du milieu favorisent l'excellente croissance des colonies.
- L'extrait de levure est une source du complexe vitaminique B.
- L'amidon est un détoxifiant, également source d'énergie.
- Le sang de mouton défibriné, qui peut être rajouté au milieu, favorise la détection des réactions hémolytiques et apporte le facteur X (hème) nécessaire à la croissance de nombreuses bactéries, mais ne contient pas le facteur V (nicotinamide adénine dinucléotide), en raison de la présence d'une NAD-ase qui détruit le NAD. *Haemophilus influenzae,* qui requiert à la fois les facteurs X et V, ne pousse pas sur gélose au sang ordinaire.
- Avec la base Columbia, il est possible de préparer les milieux suivants :

Gélose au sang frais

Par addition de 5 ou 10 % de sang de mouton stérile, après autoclavage et refroidissement, le milieu convient à la culture de streptocoques, pneumocoques, staphylocoques, *Listeria*, *Erysipelothrix*. Il peut être rendu sélectif par adjonction de colistine ainsi que d'acide nalidixique pour éviter le développement des microorganismes à Gram négatif et des *Bacillus*.

Gélose chocolat

Par addition de 10 % de sang à la gélose Columbia stérile, puis chauffage à 80°C jusqu'à l'obtention d'une teinte chocolat, on obtient un excellent milieu pour la culture des *Haemophilus* et des *Neisseria*.

Milieu de base sans enrichissement

La gélose Columbia permet la culture de *Brucella abortus*, *Yersinia pestis*, *Clostridium perfringens* et de toutes les entérobactéries.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

PREPARATION

- Mettre en suspension 42,5 g de milieu de base déshydraté (BK019) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTA :

Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.

MODE D'EMPLOI

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance).
- Refroidir et maintenir à 44-47°C.
- Ajouter les additifs nécessaires à la culture des bactéries recherchées (sang défibriné stérile de cheval ou de mouton, accélérateurs de croissance, agents sélectifs).
- Bien homogénéiser.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher en boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer l'inoculum.
- Incuber à 37°C de 24 à 48 heures dans les conditions optimales de culture des germes ensemencés.

FORMULE - TYPE du milieu de base
(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu de base :

- Polypeptone ....17,0 g
- Peptone pancréatique de coeur..3,0 g
- Extrait autolytique de levure..3,0 g
- Amidon de maïs ....1,0 g
- Chlorure de sodium...5,0 g
- Agar agar bactériologique..13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.
- Milieu préparé (avec 5% de sang de mouton défibriné) : gélose rouge, opaque.
- Réponse culturale typique après 48 heures d'incubation à 37°C, en présence de sang de mouton défibriné à 5% (méthode qualitative d'ensemencement) :

Microorganismes		Croissance	Type d'hémolyse
Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615	bonne, score 2	bêta
Streptococcus pneumoniae	ATCC 6303	bonne, score 2	alpha
Listeria monocytogenes	ATCC 19115	bonne, score 2	bêta
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	bonne, score 2	
Escherichia coli	ATCC 25922	bonne, score 2	

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu de base préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu préparé en boîtes (avec sang de mouton) : 1 mois à 2-8°C (à titre indicatif).

PRESENTATION

	Code
Milieu de base déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK019HA

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :

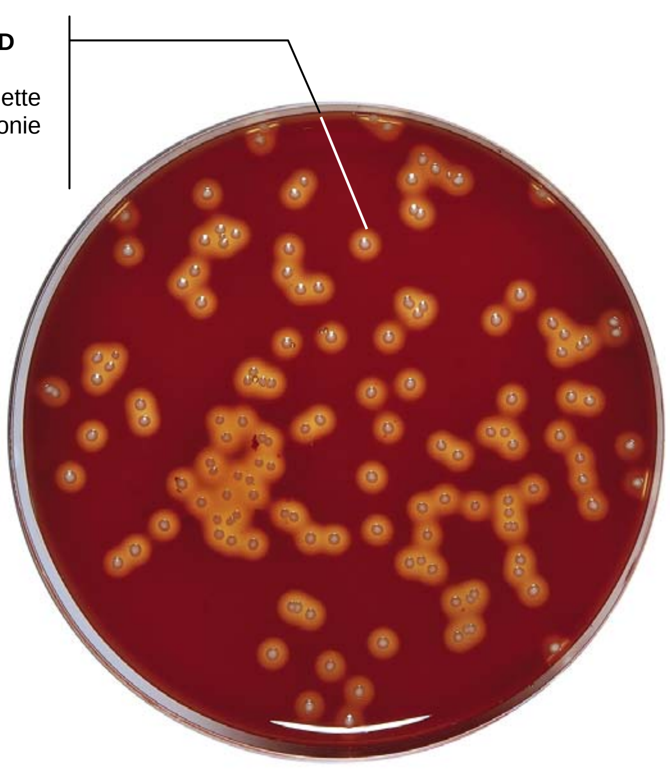


Référence : BK019HA

Domaine d'utilisation : Les culture et isolement d'une grande variété de microorganismes et plus particulièrement des germes très exigeants par addition de sang.

Streptocoque du groupe D

Zone d'éclaircissement nette autour de la colonie (β-hémolyse)



Gélose Columbia (base)

Réf : BK019HA

(additionné de 10% de sang de mouton stérile)

Incubation 48 heures à 37°C (surface)

Colonies caractéristiques présentant une zone d'éclaircissement nette ou moins nette dans le sang (nette : β-hémolyse ; moins nette : α-hémolyse)

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NETER, E.. 1947. The effect of yeast concentrate on the growth and survival of *Haemophilus influenza* in infusion broth. Journal of Bacteriology, **54** : 70-71.

THAYER, J.D. and MARTIN, J.E.. 1966. Improved medium selective for cultivation of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. Public Health Report, **81** : 559-562.

ELLNER, P.D., STOESSEL, C.J., DRAKEFORD, E. and VASI, F.. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. American Journal of Clinical Pathology, **45** : 502-504.

NF V 08-405. Décembre 1986. Conserves. Recherche des *Clostridium* thermophiles.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF U 47-108. Décembre 2004. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de *Taylorella equigenitalis* à partir de prélèvements génitaux d'équidés.

NF EN ISO 10272-1 (V 08-026-1). Avril 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter* spp. Partie 1 : Méthode de recherche.

Pharmacopée Européenne 5.6. 01/2007:20613. 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés. Solution et milieux de culture recommandés, 4679-4682.

United States Pharmacopeia 30. 2007. Microbiological Tests / Microbiological Examination. Recommended Solutions and Culture Media, 96-97.

XP CEN ISO/TS 10272-3. Juin 2010. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de Campylobacter spp.. Partie 3 : Méthode semi-quantitative.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-10-07.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK019/F/2003-01 : 5.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr